IgE

Immunglobulines E **Elecsys® 1010/2010/MODULAR ANALYTICS E170**

Français – 2002-02 – 2002132001 05 04

11930419 100 tests

Domaine d'utilisation
Test immunologique pour la détermination quantitative des IgE dans le sérum et le plasma humains à l'aide d'analyseurs automatiques de chimie clinique.
La détermination des IgE totales est une aide au diagnostic des affections allergiques.
Ce test par électrochimiluminescence "ECLIA" est adapté aux dosages sur les analyseurs Elecsys 1010/2010 et MODULAR ANALYTICS E170 (module Elecsys) de Roche.

Généralités*
Les immunoglobulines E (IgE) jouent un rôle important dans la protection immunologique contre les infections parasitaires ainsi que dans le processus de l'allergie (hypersensibilité immédiate). L'hypersensibilité immédiate est caractérisée par l'apparition de réactions allergiques immédiatement après un contact avec un antigène déclencheur d'allergie (allergène). L'allergène va se fixer sur les mastocytes ou les polynucléaires basophiles sensibilisés. Sa rencontre avec les IgE de la membrane cellulaire provoque la dégranulation des cellules et la libération de médiateurs (comme l'histamine), et déclenche l'apparition de manifestations d'hypersensibilité immédiate.
Les taux sériques d'IgE sont normalement très bas (< 0,001 % des immunoglobulines sériques totales) et dépendent de l'âge du sujet, les taux les plus bas étant enregistrés à la naissance. Ces taux augmentent ensuite progressivement pour se stabiliser entre la 5e et la 7e année, mais peuvent toutefois varier considérablement d'un sujet à l'autre dans une même tranche d'âge.[1]
Chez les nourrissons et les enfants en bas âge présentant des maladies respiratoires récidivantes, le dosage des IgE a une valeur pronostique.[1,2]
Les IgE jouent un rôle important dans les allergies : leur taux augmente chez des patients présentant des maladies allergiques comme le rhume des foins, la bronchite atopique et l'eczéma.[3,4] La présence de taux élevés d'IgE à la naissance ou dans la petite enfance peut être le signe d'une allergie en cours d'installation.[4] Des taux normaux d'IgE ne permettent pas d'exclure l'hypothèse de la présence d'une maladie allergique. Le dosage des IgE sériques pour la différenciation clinique de maladies atopiques et non atopiques n'est donc utile que s'il est associé à d'autres résultats d'examens cliniques.[1]
Les taux d'IgE dans le sérum peuvent être également élevés au cours de maladies non allergiques comme l'aspergillose bronchopulmonaire[5,6], le syndrome de Wiskott-Aldrich[7], l'hypergammaglobulinémie IgE[8], les myélomes à IgE et les infections parasitaires[9].
Le test Elecsys IgE utilise des anticorps monoclonaux spécifiques dirigés contre les IgE humaines.

Principe*
Méthode "sandwich". Durée totale du cycle analytique : 18 minutes.
- 1ère incubation : Une prise d'échantillon de 10 µl est mise en présence d'un anticorps monoclonal anti-IgE spécifique marqué à la biotine et d'un anticorps monoclonal anti-IgE spécifique marqué au ruthénium**. Il se forme un "sandwich".
- 2e incubation : Les microparticules tapissées de strepavidine sont ajoutées; le complexe immunologique est fixé à la phase solide par une liaison streptavidine-biotine.
- Le mélange réactionnel est transféré dans la cellule de mesure, les microparticules sont maintenues au niveau de l'électrode par un aimant. L'élimination de la fraction libre est effectuée par le passage de ProCell. Une différence de potentiel appliquée à l'électrode déclenche la production de luminescence qui est mesurée par un photomultiplicateur.
- Les résultats sont obtenus à l'aide d'une courbe de calibration. Une courbe de référence est mémorisée dans le code barres du réactif et est réajustée, pour l'analyseur utilisé, par une calibration en deux points.

**$Ru(bpy)_3^{2+}$: Tris(2,2'-bipyridyl)ruthénium(II)

Réactifs – Contenu du coffret et concentrations
Coffret IgE Elecsys, Réf. 11930419, 100 tests
M Microparticules tapissées de streptavidine, 1 flacon contenant 6,5 ml (bouchon transparent) : Microparticules tapissées de streptavidine, 0,72 mg/ml, capacité de liaison : 470 ng biotine/mg de microparticules ; conservateur.
R1 Anticorps anti-IgE~biotine, 1 flacon contenant 10 ml (bouchon gris) : anticorps monoclonaux (de souris) anti-IgE marqués à la biotine 2,4 mg/l ; tampon phosphate 85 mmol/l, pH 6,5 ; conservateur.
R2 Anticorps anti-IgE~$Ru(bpy)_3^{2+}$, 1 flacon contenant 10 ml (bouchon noir) : anticorps monoclonaux (de souris) anti-IgE marqués au ruthénium 4,8 mg/l ; tampon phosphate 85 mmol/l, pH 6,5 ; conservateur.

Précautions d'emploi et mises en garde
Pour diagnostic *in vitro*.
Observer les précautions habituelles de manipulation en laboratoire.
L'élimination de tous les déchets doit être effectuée conformément aux dispositions légales.

Préparation des réactifs*
Les réactifs contenus dans le coffret sont prêts à l'emploi et ne peuvent être utilisés séparément. Toutes les informations nécessaires au déroulement du test sont mémorisées sur les codes barres des flacons réactifs et doivent être saisies.

Conservation et stabilité*
Ranger le coffret IgE Elecsys entre 2 et 8°C **en position verticale**, de manière à ce que toutes les microparticules soient rassemblées lors de l'homogénéisation qui précède l'analyse.
Stabilité :
Avant ouverture, entre 2 et 8°C : jusqu'à la date de péremption indiquée
Après ouverture, entre 2 et 8°C : douze semaines
Sur E70 et Elecsys 2010 : huit semaines
Sur Elecsys 1010 : huit semaines (conservation alternée au réfrigérateur et dans l'appareil à 20–25°C, flacons ouverts au maximum 20 heures).

Prélèvement et préparation des échantillons*
Seuls les échantillons suivants ont été testés :
Sérum recueilli sur tubes standard ou contenant un gel séparateur.
Plasma recueilli sur héparinate de lithium, de sodium, EDTA tripotassique, citrate de sodium. En cas d'utilisation de plasma recueilli sur citrate, les résultats obtenus doivent être corrigés de +10%. (Critère d'acceptabilité : recouvrement 90–110% de la valeur du sérum ou pente 0,9–1,1 + coefficient de corrélation >0,95 + ordonnée à l'origine <± 2 x limite de détection analytique).
L'utilisation de plasma recueilli sur fluorure de sodium/oxalate de potassium conduit à l'obtention de résultats d'env. 18% inférieurs à ceux obtenus dans les échantillons de sérum.
Stabilité : sept jours entre 2 et 8°C, six mois à –20°C.[14] 5 congélations possibles.
Pour la stabilité du sérum recueilli sur tubes à gel séparateur, observer les indications données par le fabricant des tubes.
Les échantillons qui contiennent un précipité doivent être centrifugés avant l'analyse.
Ne pas utiliser d'échantillons inactivés par la chaleur.
Ne pas utiliser d'échantillons ou solutions de contrôle stabilisés par de l'azide.
S'assurer avant l'analyse que la température des échantillons, des calibrateurs et des contrôles est comprise entre 20 et 25°C.
En raison des risques d'évaporation, il est recommandé de doser les échantillons, les contrôles et les calibrateurs dans les deux heures qui suivent leur mise en place sur les analyseurs.

IgE Elecsys - Réactifs et matériel nécessaires*
Contenu du coffret
Réf. 11731419, coffret IgE Elecsys pour 100 tests :
- M Microparticules tapissées de streptavidine
- R1 Anticorps anti-IgE~biotine
- R2 Anticorps anti-IgE~$Ru(bpy)_3^{2+}$

Réactifs et matériel auxiliaires nécessaires
- Réf. 11930427, IgE CalSet Elecsys, 4 x 1 ml
- Réf. 11731416, PreciControl Universal Elecsys : PreciControl Universal 1 pour 2 x 3 ml et PreciControl Universal 2 pour 2 x 3 ml
- Réf. 11732277 Diluent Universal Elecsys, 2 x 18 ml, milieu de dilution de l'échantillon ou Réf. 03183971, Diluent Universal Elecsys, 2 x 40 ml, milieu de dilution de l'échantillon
- Equipement habituel de laboratoire
- Elecsys 1010/2010 ou MODULAR ANALYTICS E170

Matériel auxiliaire pour Elecsys 1010 et Elecsys 2010 :
- Réf. 11662988, ProCell Elecsys, 6 x 380 ml, tampon système
- Réf. 11662970, CleanCell Elecsys, 6 x 380 ml, solution de lavage pour la cellule de mesure
- Réf. 11930346, SysWash Elecsys, 1 x 500 ml, additif à la solution de lavage
- Réf. 11933159, Adaptateur pour SysClean
- Réf. 11706829, Assay Cup Elecsys 1010, 12 x 32 cuvettes réactionnelles ou Réf. 11706802, Assay Cup Elecsys 2010, 60 x 60 cuvettes réactionnelles
- Réf. 11706799, Assay Tip Elecsys 2010, 30 x 120 embouts de pipette

Matériel auxiliaire pour MODULAR ANALYTICS E170:
- Réf. 12135019, ProCell M, 1 x 2 l, tampon système
- Réf. 12135027, CleanCell M, 1 x 2 l, solution de lavage pour la cellule de mesure
- Réf. 03023141, PC/CC-Cups, 50 godets pour la thermorégulation de ProCell M et de CleanCell M
- Réf. 03005712, ProbeWash M, 12 x 70 ml, solution de lavage pour la fin de la série et pour le rinçage en cas de changement de réactif
- Réf. 12102137, AssayCups/AssayTips Combimagazin M, 48 blocs de 84 tubes à essai/embouts de pipettes, sacs pour déchets
- Réf. 03023150, WasteLiner (sacs pour déchets)
- Réf. 03027651, SysClean Adapter M, adaptateur M pour SysClean

Pour les trois appareils:
- Réf. 11298500, SysClean Elecsys, 5 x 100 ml, solution de lavage du système

Disponible uniquement aux Etats-Unis:
- Réf. 12107279, IgE CalCheck Elecsys à trois niveaux de concentration

Mode opératoire*
Pour garantir le bon fonctionnement du test, se conformer au mode d'emploi de l'appareil utilisé et vérifier que les réactifs, les solutions auxiliaires et les consommables nécessaires à la réalisation du test sont disponibles en quantité suffisante.
L'analyseur effectue automatiquement l'homogénéisation des microparticules. Les informations spécifiques du test mémorisées sur l'étiquette à code barres doivent être saisies. Si, exceptionnellement, le code barres ne peut être lu par l'appareil, saisir manuellement la série des 15 chiffres inscrits sur l'étiquette.
E170/Elecsys 2010 : porter les réactifs réfrigérés à env. 20°C avant le chargement et les placer dans le plateau réactifs de l'appareil thermostaté à 20°C. Eviter la formation de mousse. L'analyseur **gère** le contrôle de la température, l'ouverture et la fermeture des flacons.
Elecsys 1010 : porter les réactifs réfrigérés à env. 20–25°C et les placer dans le plateau réactifs/échantillons de l'appareil (température ambiante 20–25°C). Eviter la formation de mousse. **Ouvrir** les flacons avant la mise en route de l'analyseur, puis les **refermer** et les replacer au réfrigérateur après la série de dosages.

Calibration*
Le test IgE Elecsys a été calibré par rapport à la deuxième préparation internationale : 2nd IRP WHO, référence 75/502.[11]
Le code barres du flacon réactif contient toutes les informations spécifiques de la calibration du lot, la courbe de référence y est mémorisée. Le réajustement de la courbe pour l'appareil utilisé est effectué à l'aide des 2 solutions IgE CalSet.
Fréquence de calibration : Effectuer une calibration par lot en utilisant un réactif frais (ayant été enregistré depuis au maximum 24 heures par l'appareil).
Une nouvelle calibration est recommandée pour :
E170/Elecsys 2010 :
- après un mois (28 jours) pour un même lot de réactifs
- après sept jours pour un même flacon de réactif resté sur l'appareil

Elecsys 1010:
- à chaque nouveau coffret
- après sept jours à une température ambiante entre 20 et 25°C
- après sept jours à une température ambiante entre 25 et 32°C

E170, Elecsys 1010 et Elecsys 2010 :
- quand elle s'avère nécessaire : par ex. si les résultats des sérums de contrôle se situent en dehors des limites de confiance.

Validation de la calibration : Le logiciel de l'appareil vérifie la validité de la courbe et affiche les anomalies.

Contrôle de qualité*
Utiliser PreciControl Universal 1 et PreciControl Universal 2 Elecsys, ou d'autres sérums de contrôle appropriés.
Il est recommandé de doser les sérums de contrôle 1 et 2 en simple au moins une fois toutes les 24 heures pendant une routine, pour chaque nouveau coffret et lors d'une calibration. Cette fréquence peut varier selon les exigences du laboratoire. Les résultats doivent se situer dans les limites de confiance.

Chaque laboratoire établira la procédure à suivre si les résultats sont situés en dehors des limites de confiance.

Expression des résultats*
E170, Elecsys 1010 et Elecsys 2010 calculent le taux d'IgE de chaque échantillon. Les résultats sont exprimés au choix en UI/ml ou en ng/ml.
Facteurs de conversion : UI/ml x 2,40 = ng/ml
ng/ml x 0,42 = UI/ml

Limites d'utilisation - Interférences*[11]
La bilirubine (< 370 mg/l ou 37 mg/dl), l'hémolyse (Hb < 1,1 g/dl), la lipémie (triglycérides < 22 g/l ou 2200 mg/dl), la biotine < 100 ng/ml n'influencent pas le résultat (critère d'acceptabilité : recouvrement ± 10% par rapport à la valeur initiale).
Chez les patients traités par de fortes doses de biotine (> 5 mg/jour), il est recommandé d'effectuer le prélèvement de l'échantillon au moins 8 heures après la dernière administration.[11]
Le résultat n'est pas influencé par le facteur rhumatoïde jusqu'à 6000 U/ml (comparaison du test IgE Elecsys avec un autre test IgE dans 50 échantillons).
Il n'a pas été observé d'effet crochet pour des concentrations > 50 000 UI/ml (120 000 ng/ml).
L'influence de 36 médicaments fréquemment administrés a été recherchée *in vitro* : aucune interférence n'a été observée.
Comme pour tous les tests contenant des anticorps monoclonaux de souris, on peut obtenir des résultats erronés avec des sérums de patients ayant reçu des anticorps monoclonaux de souris dans un but thérapeutique ou de diagnostic.
Dans de rares cas, des titres très élevés d'anticorps anti-ruthénium peuvent conduire à des interférences. Ces risques sont toutefois minimisés dans le test IgE Elecsys.
Dans des cas isolés, des titres très élevés d'anticorps anti-streptavidine peuvent conduire à des interférences.
Pour le diagnostic, les résultats du test IgE Elecsys doivent toujours être confrontés aux données de l'anamnèse du patient, au tableau clinique et aux résultats des autres examens.

Domaine de mesure*[11]
0,100–2500 UI/ml ou 0,240–6000 ng/ml (défini par la limite de détection et le maximum de la courbe de référence). Les taux situés au-dessous de la limite de détection sont exprimés de la manière suivante : < 0,100 UI/ml (0,240 ng/ml) et les taux situés au-dessus du domaine de mesure de la manière suivante : > 2500 UI/ml (6000 ng/ml) ou > 50 000 UI/ml (120 000 ng/ml) pour les échantillons dilués (1/20).

Dilution des échantillons
Les échantillons présentant des taux d'IgE > 2500 UI/ml (6000 ng/ml) peuvent être dilués au 1/20e avec Diluent Universal, manuellement ou automatiquement par l'appareil. La concentration obtenue avec l'échantillon dilué doit être > 60 UI/ml (144 ng/ml). Les analyseurs E170, Elecsys 1010 et Elecsys 2010 gèrent la dilution et le calcul du résultat. Si la dilution est effectuée manuellement, multiplier le résultat obtenu par le facteur de dilution.

Domaine de référence*[12-24]
Le taux sérique d'IgE de sujets sains, non atopiques, varie considérablement en fonction de l'âge. Les taux les plus bas sont enregistrés chez les nouveau-nés. Ils atteignent un maximum chez les enfants de 9–13 ans pour diminuer à nouveau chez l'adulte.
Valeurs seuil recommandées :[14]

Tranches d'âge	UI/ml	ng/ml
Nouveau-nés	1,5	3,6
Nourrissons	15	36
Enfants (1–5 ans)	60	144
Enfants (6–9 ans)	90	216
Enfants (10–15 ans)	200	480
Adultes	100	240

Chaque laboratoire devra vérifier la validité de ces valeurs de référence et établir ses propres valeurs selon la population examinée.

Performances analytiques*[11]
Les résultats indiqués ci-dessous ont été obtenus avec les analyseurs Elecsys. Les résultats obtenus au laboratoire peuvent différer de ceux-ci.

Précision
La précision a été déterminée à l'aide de pools de sérums humains et des sérums de contrôle, chaque échantillon a été analysé 6 fois par jour pendant 10 jours (n = 60) selon un protocole modifié (EP5-A) du N.C.C.L.S. (National Committee for Clinical Laboratory Standards); précision intra-série sur E170 : n = 21. Les résultats suivants ont été obtenus :

Elecsys 1010/2010			Précision intra-série			Précision inter-série		
Echantillon	$\bar{x}$		s		CV	s		CV
	UI/ml	ng/ml	UI/ml	ng/ml	%	IUI/ml	ng/ml	%
Sérum humain 1	5,18	12,4	0,19	0,44	3,6	0,22	0,53	4,2
Sérum humain 2	398	956	12,7	30,5	3,2	15,4	37,0	3,9
Sérum humain 3	1010	2424	24,1	57,7	2,4	31,3	75,1	3,1
PreciControl U1	105	253	2,24	5,38	2,1	2,05	4,91	1,9
PreciControl U2	197	473	5,45	13,1	2,8	7,62	18,3	3,9

E170	Précision intra-série					Précision inter-série				
Echantillon	$\bar{x}$		s		CV	$\bar{x}$		s		CV
	UI/ml	ng/ml	UI/ml	ng/ml	%	UI/ml	ng/ml	UI/ml	ng/ml	%
Sérum humain 1	3,36	8,07	0,08	0,19	2,3	3,31	7,94	0,14	0,34	4,3
Sérum humain 2	457	1097	10,1	24,2	2,2	443	1062	16,9	40,7	3,8
Sérum humain 3	1128	2707	29,3	70,3	2,6	1215	2915	79,1	190	6,5
PreciControl U1	95,4	229	1,42	3,41	1,5	92,6	222	2,84	6,82	3,1
PreciControl U2	145	349	1,92	4,60	1,3	141	339	4,34	10,4	3,1

Sensibilité (limite de détection analytique)
0,10 UI/ml (0,24 ng/ml)
La limite de détection correspond au taux le plus faible d'IgE mesurable qui puisse être différencié de zéro. Elle représente la concentration du standard le plus faible de la courbe de référence + 2s (calibrateur de référence, standard 1 + 2s, précision intra-série n = 21).

Sensibilité fonctionnelle
0,50 UI/ml ou 1,20 ng/ml
La sensibilité fonctionnelle est définie comme étant la concentration la plus basse pouvant être mesurée de manière reproductible avec un CV inter-série < 10%.

Spécificité analytique
Le test fait appel à des anticorps monoclonaux hautement spécifiques des immunoglobulines E. Aucune réaction croisée avec les immunoglobulines G, A et M n'a été observée.

Comparaison de méthodes*[11]
Une comparaison entre le test Elecsys IgE (y) et le test Enzymun-Test IgE (x) sur des échantillons de patients hospitalisés a permis d'établir les corrélations suivantes (UI/ml) :
Nombre d'échantillons analysés : 188

Passing/Bablok[15-17]	Régression linéaire
y = -0,53+ 0,97x	y = -1,85+ 1,01x
r = 1,0	r = 1,0
s(md68) = 2,42	Sy.x = 5,86

Les concentrations des échantillons étaient situées entre 1,6 et 500 UI/ml ou 3,8 et 1200 ng/ml.

Bibliographie
1 Homburger HA. The Laboratory Evaluation of Allergic Diseases: Part I: Measurement Methods for IgE Protein. Lab med 1991;22:780–2.
2 Johansson SGO. In vitro Diagnosis of Reagin-Mediated Allergic Diseases. Allergy 1978;33: 292–98.
3 Burrows B, Martinez FD, Halonen M, Barbee RA, Cline MG. Association of Asthma with Serum IgE Levels and Skin-Test Reactivity to allergens. N Engl J Med 1989;320:271–277.
4 Loeffler J, Cawley LP, Moeder M. Serum IgE levels: Correlation with skin test sensitivity. Ann Allergy 1973;31: 331–6.
5 Greenberger P, Patterson R. Allergic bronchopulmonary aspergillosis and the evaluation of the patient with asthma. J All Clin Immunol 1988;81(4):646–650
6 R. Patterson, et al. Serum Immunoglobulin E in pulmonary allergic aspergillosis. J All Clin Immunol 1972;49(2):98–99.
7 Waldman TA, Polmar SH, Ballestra ST, Jost MC, Bruce RM, Terry WD. Immunoglobulin E in immunologic deficiency diseases. II. Serum IgE Concentration of Patients with Acquired Hypogammaglobulinemia, Thymoma and Hypogammaglobulinemia, Myotonic Dystrophy, Intestinal Lymphangiectasia and Wiskott-Aldrich Syndrome. J Immunol 1972;109(2): 304–10.
8 Geha R, Reinherz E, Leung D, McKee KT, Schlossman S, Rosen FS. Deficiency of Suppressor T Cells in the Hyperimmunoglobulin E Syndrome. J Clin Invest 1981;68:783–791.
9 Kojima S, Yokogava M, Tada T. Raised Levels of Serum IgE in Human Helminthiases. Am J Trop Med Hyg 1972;21(6):913–17.
10 Guder WG, Narayanan S, Wisser H, Zawta B.List of Analytes Preanalytical Variables. Brochure dans: Samples: From the Patient to the Laboratory. GIT-Verlag, Darmstadt 1996:16–17. ISBN 3-928865-22-6.
11 Documentation de Roche.
12 Kjellman NIM, Johansson SGO, Roth A. Serum IgE levels in healthy children quantified by a sandwich technique (PRIST). Clin All 1976;6:51–59.
13 Ringel KP, Dati F, Buchholz E. IgE-Normalwerte bei Kindern. Laboratoriumsblätter 1982;32:26–34.
14 Dati F, Ringel KP. Reference values for serum IgE in healthy non-atopic children and adults. Clin Chem 1982;28(7):1556.
15 Passing H, Bablok W. A New Biometrical Procedure for Testing the Equality of Measurements from Two Different Analytical Methods. J Clin Chem Clin Biochem 1983;21:709–720.
16 Passing H, Bablok W. Comparison of Several Regression Procedures for Method Comparison Studies and Determination of Sample Sizes. J Clin Chem Clin Biochem 1984;22:431–445.
17 Bablok W, et al. A General Regression Procedure for Method Transformation. J Clin Chem Clin Biochem 1988;26:783–790.

* Pour de plus amples informations, se référer au manuel d'utilisation des analyseurs MODULAR ANALYTICS E170, Elecsys 1010 et Elecsys 2010, au dossier Product Information IgE Elecsys et aux notices d'utilisation IgE CalSet, PreciControl Universal et Diluent Universal.

▯ = Modifications importantes. Les modifications concernant les données contenues dans le code barres doivent être entrées manuellement.



Roche Diagnostics GmbH, D-68298 Mannheim

2002-02



2002132001 06 04

